

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

Departamento de Postgrado

**“Artritis temprana y Neopterinina”: actividad de la enfermedad y marcadores serológicos de la inflamación, correlación en tres períodos, una experiencia en Argentina.**

Carrera de Especialista Universitaria en Reumatología.

Director: Dr. Alfredo Silvio Arturi.

Autor: María Yanina Paola Aguirre.

Lugar de realización: H.I.G.A San Martín La Plata, Buenos Aires.

**“Artritis temprana y Neopterinina”:  
actividad de la enfermedad y marcadores  
serológicos de la inflamación, correlación  
en tres períodos, una experiencia en  
Argentina.**

## **Introducción**

La artritis reumatoidea (AR) es una enfermedad sistémica, de etiología desconocida, que cursa con manifestaciones articulares y extrarticulares. Las articulares son inflamatorias con evolución crónica y recurrentes. La AR es una enfermedad de distribución mundial, comprometiendo al 1 % de la población adulta caucásica. En la Argentina se realizaron estudios donde se observó una prevalencia de 1,97 por 1.000 habitantes siendo de 0,6 para los hombres y de 3,2 para las mujeres<sup>1,2</sup>. La incidencia de la enfermedad en nuestro país es de 2,4 por 100.000 personas/año<sup>2</sup>. Afecta tanto mujeres como hombres pero existe una relación 2-3:1(mujer /hombre); puede ocurrir a cualquier edad, pero es más frecuente entre los 30 y 50 años<sup>2</sup>.

En éstos últimos años hubo un avance en el tratamiento de la AR, pero lo que es más importante aún es reconocer a los pacientes con artritis que no reúnen criterios ACR para AR pero tienen altas probabilidades de evolucionar a dicha enfermedad. Por lo tanto se considera a éstos pacientes con artritis temprana y son aquellos que presentan poliartritis de 12 semanas de duración o menos, con tres o más articulaciones afectadas, sin trauma previo, con compromiso de metacarpo/metatarsofalángicas y rigidez matinal de 30 minutos o más. Reactantes de fase aguda elevados en el laboratorio: como eritrosedimentación (ERS), proteína C reactiva (PCR) y la presencia del factor reumatoideo (FR +)<sup>3</sup>.

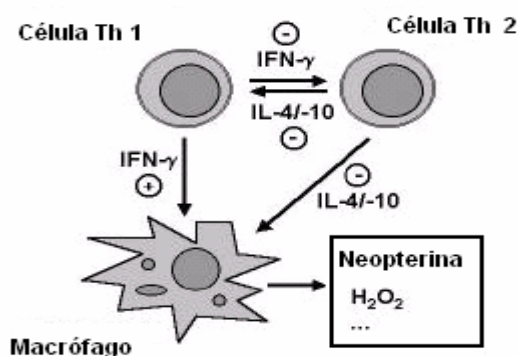
La lesión principal de la AR está localizada en las articulaciones con inflamación de la membrana sinovial. En la AR temprana la membrana sinovial comienza a engrosarse debido a hiperplasia e hipertrofia de la sinovial. Las células T (predominante CD 4) y las células B (algunas de las cuales se transforman en células plasmáticas) infiltran la membrana sinovial.

La activación de las células T CD 4 también estimula a los linfocitos B luego de su activación el linfocito B produce inmunoglobulinas incluyendo factor reumatoideo.

La activación de las células T CD4 estimula a monocitos, macrófagos y fibroblastos sinoviales para producir citoquinas las que promueven el efecto inflamatorio. Las citoquinas inflamatorias más importantes son: factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (FNT), interleuquina 1(IL 1) y la interleuquina 6 (IL 6).

La citoquinas antiinflamatorias más reconocidas al momento son las IL-10 e IL-4, cooperan para inhibir la producción de citoquinas inflamatorias<sup>4</sup>.

La IL 2 y el interferón  $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ) son citoquinas producidas por los linfocitos T helper (Th1)<sup>5</sup>, que es la respuesta inmune mediada por células T citotóxicas, incrementando la producción de neopterina en los fluidos corporales que se puede utilizar para controlar la activación de la inmunidad mediada por células, como por ejemplo las enfermedades virales (respuesta inmune mediada por inmunidad celular). Por otro lado en enfermedades bacterianas la respuesta inmune dominante es (Th2) caracterizado por la formación de IL5, IL6, IL9, IL10 e IL13 (respuestas inmune humoral)<sup>6</sup>.



**Figura 1.** Durante la activación de la inmunidad de tipo Th1 la respuesta en humanos y primates, el IFN  $\gamma$  estimula los macrófagos para producir neopterina y en paralelo especies reactivas de oxígeno como el  $H_2O_2$ . La célula de tipo Th1 regula a la célula de tipo Th2 y viceversa. Las citoquinas de las células Th2 como IL4 e IL10 suprimen a la de tipo Th1 la respuesta y la producción de neopterina. Citoquinas y productos químicos (por ejemplo, los antioxidantes) suprimen las células tipo Th1 y la producción de citoquinas afectando también la tasa de formación de neopterina <sup>7</sup>.

La neopterina, 2-amino-4-hydroxy-6-(D-erythro-1', 2', 3'- trihydroxypropyl) pteridina<sup>8</sup>, es una ptienopiridina considerada como marcador de inmunidad celular<sup>9, 10</sup>. Las ptienopiridinas se aislaron por primera vez de material biológico en 1889 <sup>11</sup>. Inicialmente fueron descritas como pigmentos en insectos <sup>12</sup>. Desde entonces, se han identificado múltiples sustancias pertenecientes a dicha familia.

Dentro de este grupo, la neopterina es un derivado aromático<sup>13</sup>. Los monocitos / macrófagos son la principal fuente de producción de neopterina en el cuerpo humano<sup>14</sup>, pero no la única, ya que también es secretada en el sistema nervioso central por las células de la microglía<sup>15</sup>. La neopterina es un marcador de activación de los monocitos / macrófagos que se ha aislado en distintos fluidos corporales<sup>16-18</sup> (como suero, orina, líquido sinovial y cefalorraquídeo) y cuya liberación se correlaciona con la capacidad de estas células para producir radicales libres de oxígeno<sup>19, 20</sup>.

Derivados de neopterina pueden considerarse como un indicador de estrés oxidativo debido a la activación inmune<sup>21, 22</sup>.

Las pterinas, producidas por los macrófagos ante la estimulación del IFN gamma son la neopterina y 7,8- dihidroneopterina, las formas dihidro de las pteridinas son lábiles, sólo se cuantifica la forma más estable: neopterina <sup>23</sup>.

Se considera que la neopterina aporta información acerca de la actividad de la célula Th1 y se describe su aumento en infección por **virus** como por ejemplo en HIV, hepatitis viral aguda, Epstein Barr, citomegalovirus, paperas, rubéola, infecciones por **bacterias** intracelulares y parásitos<sup>24-31</sup>.

También se encuentran aumentadas en condiciones tan diversas como en **enfermedades autoinmunes** (artritis reumatoidea, lupus eritematoso sistémico, granulomatosis de Wegener, dermatomiositis, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa) <sup>32-40</sup>. **Hematológicas malignas** (cerca 90%), cáncer de mama o melanoma (cerca 20%), cáncer de ovario (80%), carcinoma pancreático (70%), cáncer de pulmón (58%), carcinoma cervical (55%) <sup>41</sup>. **Enfermedades neurológicas degenerativas** como la demencia de la enfermedad de Alzheimer<sup>42</sup> y la enfermedad de Huntington<sup>43</sup>, esclerosis múltiple<sup>44</sup>, la demencia vascular, en la enfermedad de Parkinson<sup>45</sup>, las concentraciones de neopterina son generalmente más altos en el suero / plasma que en el líquido cefalorraquídeo. En **enfermedades cardiovasculares** existe un aumento de neopterina que se encontró en aterosclerosis de las arterias coronarias y carótidas<sup>46, 47</sup>, síndromes coronarios agudos y crónicos <sup>48, 49</sup>, enfermedad coronaria crónica, infarto agudo de miocardio<sup>50</sup>, angina inestable <sup>51</sup>, miocardiopatía dilatada o miocarditis crónica<sup>52</sup>, insuficiencia mitral y aórtica<sup>42-45</sup>.

En las **embarazadas** existe la activación de las células Th1 por lo tanto se observa un incremento en la degradación de triptofano que indica activación de la respuesta y se correlaciona con incremento de neopterina. Recordando que el triptofano es degradado por la indoleamindioxigenasa a kynurenina se estima que esta degradación es necesaria para inducir tolerancia al feto<sup>53</sup>.

Las principales aplicaciones diagnósticas en las determinaciones de la neopterina son, el monitoreo de los pacientes transplantados en quienes facilita el reconocimiento de complicaciones tempranas. En el seguimiento de los aloinjertos sólidos (riñón, corazón, hígado, páncreas) los niveles de neopterina en orina / suero / plasma se ha convertido en una herramienta útil en la vigilancia después del trasplante. La producción de neopterina vuelve a la normalidad después de la cirugía, mientras que el mantenimiento de altas concentraciones indica una complicación inmunológica tal como el rechazo del órgano o infección. En los receptores de aloinjertos renales se encontró que un aumento de producción de neopterina precede al diagnóstico clínico de rechazo hasta cuatro días y que los valores altos de neopterina durante el primer periodo post-trasplante se asocia con los más pobres a largo plazo la supervivencia del injerto<sup>54,55</sup>. En el trasplante hepático, paralelo a la medición de las concentraciones de neopterina en la orina y bilis permite la discriminación entre el rechazo permanente y la infección, debido a exceso de neopterina biliar.

También en el trasplante de páncreas, la medición de la excreción de neopterina en el jugo pancreático ofrece información adicional sobre el origen de la activación inmune<sup>56</sup>. En el trasplante de médula ósea, la medición de neopterina permite monitorizar el curso de destrucción del sistema inmunológico y la reconstitución hematopoyética. Después de la reconstitución hematopoyética que permite discriminar entre pacientes con o sin aumento del riesgo de desarrollo de injerto contra huésped y la infección viral, respectivamente<sup>57</sup>.

En pacientes con HIV se han asociado la presencia de valores séricos elevados con pobre expectativas de vida en la infección por VIH, las concentraciones de neopterina aumentan durante la infección aguda y disminuyen después de la sero-conversión, pero no se normalizan<sup>58</sup>. Por lo tanto, más de tres cuartas partes de los infectados por el VIH muestran una elevada producción de neopterina a pesar de no tener síntomas<sup>59, 60</sup>. A partir de éstos datos la neopterina juega un papel crucial en la patogénesis de la activación inmune del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) que se deduce muy temprano<sup>61</sup>. Las células T activadas son más susceptibles a la infección por el VIH y la activación de células T infectadas induce la replicación del virus.

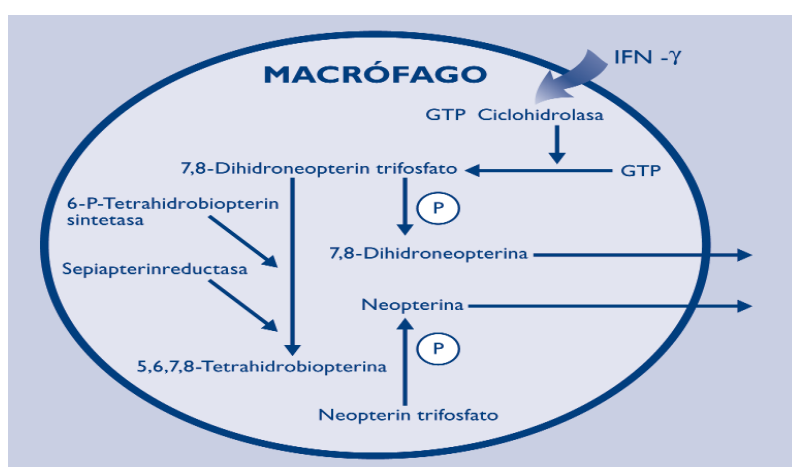
En el análisis de muestras de sangre de donantes su determinación se considera un método sensible pero inespecífico para la detección de infecciones.

También se describe como una herramienta útil para el monitoreo de la respuesta terapéutica en pacientes con desordenes autoinmunes, donde la inmunidad celular está comprometida y los niveles de neopterina se encuentran elevados, como ocurre en AR; hay trabajos donde se ha demostrado un aumento de las concentraciones de éstas en sangre y orina correlacionado con la actividad de la enfermedad<sup>62</sup>; también en fluidos como el líquido sinovial durante una exacerbación aguda de la enfermedad<sup>63</sup>.

Las concentraciones de neopterina en éstos fluidos reflejan el nivel de estrés oxidativo secundario a la activación del sistema inmune<sup>64</sup>. Se puede medir mediante técnicas de ELISA, radio-inmunoanálisis o cromatografía<sup>65</sup> y es estable durante semanas si se conserva a -20°C. Se elimina en su forma primitiva por el riñón por filtración glomerular y posiblemente también en parte por secreción tubular, ya que el aclaramiento de la neopterina es superior al de la insulina<sup>66</sup>. Sus concentraciones se relacionan con la edad, siendo mayores en niños y ancianos<sup>65</sup>.

## Vías de formación de la neopterinina

La neopterinina es un compuesto de bajo peso molecular (253 Da) producido por los monocitos/macrófagos (figura 2) desde el guanósín trifosfato (GTP) por la vía de la enzima GTP ciclohidrolasa 1. La actividad de esta enzima se incrementa con el IFN  $\gamma$ , el IFN  $\alpha$ , la endotoxina y otras citoquinas. El IFN  $\gamma$ , liberado por los linfocitos tipo 1 (Th1) y por células NK; es la citoquina más potente en la inducción de dicha enzima y en el aumento de la concentración de neopterinina en los fluidos corporales. La concentración de neopterinina se correlaciona con la presencia de IFN  $\gamma$ . Como el IFN  $\gamma$  se libera por linfocitos T activados, la neopterinina es un marcador sensible de inmunidad celular. El GTP se convierte en 7,8-dihidroneopterinina trifosfato por acción de la enzima GTP ciclohidrolasa 1. De la 7,8 dihidroneopterinina por distintas vías metabólicas se derivan compuestos como la neopterinina o la 5, 6, 7,8-tetrahidrobiopterina<sup>66</sup>.



**Figura 2.**

La neopterinina se forma a partir del GTP por la vía de la enzima GTP hidrolasa 1. La actividad de esta enzima se incrementa especialmente en presencia del IFN  $\gamma$  producido por los linfocitos Th1 y las células NK<sup>66</sup>.

**El objetivo del presente estudio:** es investigar los niveles séricos de neopterinina en pacientes con Artritis Temprana y establecer su relación con la actividad de la enfermedad en tres períodos.

## **Pacientes y Métodos**

El diseño que se aplicó en éste estudio fue no experimental, prospectivo y longitudinal, en donde se estudiaron 27 pacientes de ambos sexos con diagnóstico de Artritis temprana (se considera como artritis temprana hasta los dos años transcurridos desde el inicio de los síntomas)<sup>67</sup> y un grupo control (individuos sanos que realizaron un control de laboratorio) que asistían al consultorio externo del Servicio de Reumatología del H.I.G.A San Martín de La Plata en el período de 2 años (abril 2008 – marzo 2010).

Se evaluó a los pacientes el día cero, a los seis y doce meses.

Se estableció la relación entre los niveles séricos de neopterinina y la actividad de la enfermedad. Las extracciones sanguíneas se realizaron en un laboratorio de análisis clínicos e inmunológicos de la ciudad de La Plata.

Los criterios de inclusión fueron: ambos sexos, mayor de dieciocho años de edad, con evolución de la artritis entre 3 meses y 24 meses.

Criterios de exclusión: pacientes embarazadas y/o en períodos de lactancia; pacientes que cursen enfermedades infecciosas, otras enfermedades autoinmunes, metabólicas, neurológicas, neoplásicas y psiquiátricas conocidas.

Los tratamientos admitidos fueron: AINES (diclofenac, ibuprofeno, naproxeno, indometacina), prednisona hasta 10 mg /día o su equivalente en metilprednisona y las siguientes drogas modificadoras de la enfermedad (DMARS): metotrexato, hidroxicloroquina, leflunomida y sulfazalacina a las dosis habituales.

Las variables a estudiar fueron: los niveles de neopterina; la actividad de la enfermedad mediante los índices de evaluación internacional, DAS 28, Evaluación global del paciente (EVA) y Health Assessment Questionnaire (HAQ)<sup>68</sup>; reactantes de fase aguda (ERS, PCR).

En cada visita programada se realizó anamnesis, examen físico, hemograma completo, hepatograma, orina completa, ERS, PCR, FR, anti CCP, ANA y se determinó el DAS 28, EVA (de actividad y dolor) y HAQ. Se consideró *rigidez matinal* a la limitación de los movimientos de las manos al despertar por la mañana o después de la inactividad prolongada > a una hora. Artritis: inflamación de 3 o más articulaciones del lado derecho o izquierdo, entre ellas IFP, MCF, muñeca, codo, rodilla, tobillo, MTF. Poliartritis: más de cuatro articulaciones en forma simultánea o aditiva.

Se determinó los niveles de neopterina en sangre. Se registraron las eventuales intercorrelaciones inflamatorias e infectológicas durante el estudio.

Las radiografías de manos y pies fueron evaluadas por un reumatólogo de experiencia, en la visita inicial y a los doce meses mediante el método SENS (Simple Erosion Narrowing Score) score de pinzamientos y erosiones. Este método evalúa las mismas áreas que el método Sharp/van der Heijde que incluye 16 áreas para erosiones y 15 para reducción o pinzamiento del espacio articular en cada mano. Las áreas donde se evalúan las erosiones son: el radio y el cúbito, el escafoide, el semilunar, el trapecio y trapecioide (como una unidad: multiangular), el 1er metacarpiano, las 10 MCF, 8 IFP y 2 interfalángicas (IF) de los pulgares. Las áreas donde se evalúan pinzamientos: articulaciones radiocarpiana, grande-escafoide-semilunar, multiangular-escafoide, 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> y 5<sup>a</sup> carpometacarpianas, en 10 MCF Y 8 IFP. En los pies se evalúan las mismas áreas para erosiones y pinzamientos: 10 metatarsofalángicas (MTF) y las 2 IF de los hallux<sup>69</sup>.

Las medidas de FR, PCR se realizaron por inmunoturbidimetría con reactivos Roche-Cobas en autoanalizador Hitachi 902 (Alemania), la determinación de ANA (anticuerpos antinucleares) se realizó sobre células Hep-2 (Bio Rad, USA). La determinación de anti CCP por Enzimoimmunoanálisis con INOVA Quanta Lite® (USA); la investigación de Neopterina por ELISA con Gen Way Biotech Inc.

La evaluación de resultados se realizó con los cálculos surgidos de las calibraciones en los distintos equipos, en el caso de Neopterina se utilizó el programa para Logit-log. Para el nivel de significación se utilizaron los estadísticos adecuados al número de muestras (pacientes) procesadas. Se consideró valor normal por debajo de 10 nmoles/L.

Dentro de las consideraciones éticas se aplicó los principios de la Declaración de Helsinki de la asociación médica donde se mantuvo la confidencialidad de los datos, a los pacientes y al grupo comparativo (individuos sanos mayores de dieciocho años de edad) se les explicó el objetivo del estudio y todos firmaron un consentimiento informado previamente a la inclusión en el protocolo. En él se les detalló la información del estudio y se especificó que la participación era libre y voluntaria, confirmandoles que la extracción sanguínea era sólo para determinaciones que comprendan al protocolo.

La carga de datos fue por medio de una planilla de Excel, donde se cargaron los valores de los niveles de neopterinas y los valores de los niveles de actividad de la enfermedad.

Análisis estadístico: Los datos continuos son reportados como media y desvío estándar (DE) o mediana y rango intercuartilo (RIC) de acuerdo a la presencia o no de distribución normal. Los datos categóricos se presentan como número y porcentajes correspondientes. Las comparaciones se realizaron con T test para datos continuos de distribución normal, o Wilcoxon ranksum test para aquéllos de distribución no normal. Para comparaciones múltiples se utilizó ANOVA one-way test, seguido de corrección de Bonferroni.

Las comparaciones de datos categóricos fueron realizadas con Test de Chi 2 o Fisher, según corresponda. Las comparaciones múltiples, con Chi 2 múltiple y corrección de Bonferroni.

Se consideró significativo un valor de  $p \leq 0.05$  a dos colas. Se utilizó para el análisis el programa estadístico STATA 9.0 (StataCorp; College Station, TX).

## **Resultados:**

Se evaluaron 27 pacientes en tres períodos (81 visitas en total) de los cuales 19 (70 %) eran mujeres, y 8 (30%) varones.

La edad promedio fue  $36 \pm 13$  años, hombres (entre 23 y 60 años) y en mujeres (entre 19 y 56 años).

**a) Manifestaciones clínicas:** en el período inicial 25/27 de ellos (93%) presentaban Síntomas (en orden de frecuencia) sinovitis de carpos, IFP (interfalángica proximal), MCF (metacarpo falángica), MTF (metatarsofalángica); omalgia y al año solo 12 (46%) artralgia y sinovitis de carpos; dolor de MCF; sinovitis de IFP. (Valor de  $p = < 0,01$ ); Rigidez matinal al inicio en 21(78%) pacientes y al año 4(15 %) pacientes (Valor de  $p = < 0,01$ ). Artritis en el período inicial 25 (93%) pacientes y al año 12 (46%) pacientes, Monoartritis en 9(36%) al año en 11 (92%), Poliartritis al inicio en 16(64%) pacientes y al año 1(8%) (Valor de  $p = < 0,01$ ), Manifestaciones extrarticulares (en orden de frecuencia: anemia, ojos y/o boca seca y nódulos reumatoideos) en 21(78%) pacientes y al año 9 (35%) pacientes (Valor de  $p = < 0,05$ ).

### **Tabla 1.**

**b) Manifestaciones radiológicas:** Erosiones: al inicio había erosiones en 9 (35%) pacientes y al año 2 de éstos 9 pacientes presentaron más números de erosiones, y ocurrieron en 2 pacientes que no las tenían.; DEA (disminución del espacio articular) de las articulaciones de las manos y de los pies, al inicio 13 (50%) y al año 13 pacientes (50 %) (Valor de  $p = 1$ ). **Tabla 1.**

En los pacientes que ya tenían erosiones (9 pacientes) como en aquellos en quienes ocurrieron nuevas erosiones (2 pacientes) al año de seguimiento, la concentración de neopterina disminuyó en un 63.6% (7 pacientes) y el DAS 28 disminuyó en todos los pacientes 100%(11 pacientes). La concentración de neopterina también disminuyó en un 61.5 % (8 pacientes) de los 13 que tenían DEA, y el DAS28 también disminuyó en 84.6% (11/13 pacientes), los 2 restantes no siguieron el control. Todos recibían tratamiento y seguimiento por sus respectivos médicos de cabecera.

**c) Tratamiento :**

Tratamiento	Período 0	Período 2
MTX	27(100%)	22(81%)
HDQ	7	10
LF	1	4
SZS	3	3
GCC	25(93%)	21(81%)
AINES	21(78%)	23(85%)
Acido fólico	24	24
Ca+ y Vit D3	6	12



Con respecto al tratamiento, los 27(100%) pacientes tomaban DMARS. Metotrexato: tomaban los 27(100%) pacientes (entre 7,5-20 mg/semanales) y en el período 2 fueron 22(81%) pacientes, debido a que 1 se embarazó ,1 se perdió del estudio, 1 lo abandonó porque la habían operado (luego se lo reinstauró) y en 2 sus respectivos médicos se los suspendieron. Al año: de los 11 pacientes en que se aumentó la dosis de MTX, 6 de ellos la concentración de neopterinina disminuyó y el DAS28 también fue inferior en 4 de los 6.

Hidroxicloroquina: 7 pacientes tomaban 400mg/día y al año fueron 10 pacientes. La concentración de neopterinina fue inferior en la mayoría(a excepción de uno) de los que ya la tomaban, como a los que se les instauró ésta medicación. El DAS28 también disminuyó en todos los pacientes.

Leflunomida: 1 paciente tomaba leflunomida 20mg/día y al año fueron 4 pacientes. La concentración de neopterinina disminuyó en el que ya la tomaba y también en los que se les instauró la medicación. Lo mismo sucedió con el DAS28 fue inferior en el que la tomaba como en los que se les administró LF.

Sulfazalacina: 3 pacientes tomaban SZS 2/día y al año los 3 pacientes la seguían tomando, el DAS28 bajó en todos ellos y la neopterinina disminuyó en 2 de ellos.

Glucocorticoides: 25(93%) pacientes los tomaban y al año 21 (81%) pacientes. Con respecto al DAS 28 disminuyó en un 76%(19 pacientes) al año y el nivel de neopterinina un 56%(14 pacientes).

AINES: 19 (73%) tomaban AINES y al año 23(85%) pacientes. El DAS28 disminuyó un 80%(17pacientes) y el nivel el de neopterinina disminuyó un 47%(10 pacientes) en el período 2.

Calcio y Vitamina D3: 6 pacientes lo tomaban y al año 12 pacientes. El DAS 28 disminuyó en todos los pacientes y el nivel de neopterinina disminuyó en 10 pacientes en el período 2.

**Tabla 1:**

N= 27				
Edad, media ± DS: 36 ± 13				
Sexo fem, n (%): 19 (70)				
	Período 0	Período 1	Período 2	Valor de p
Síntomas, n (%)	25 (93)	21 (78)	12 (46)	< 0.01 ( # )
Rigidez matinal, n (%)	21 (78)	4 (15)	4 (15)	< 0.01 ( * # )
Artritis, n (%)	25 (93)	20 (72)	12 (46)	< 0.01 ( # )
Monoartritis, n (%)	9 (36)	8 (40)	11 (92)	
Poliartritis, n (%)	16 (64)	12 (60)	1 (8)	
Artralgias, n (%)	19 (70)	14 (52)	11 (42)	< 0.05 ( # )
Manisfest. Extraartic, n (%)	21 (78)	16 (59)	9 (35)	< 0.05 ( # )
Erosiones, n (%)	9 (35)	9 (35)	11 (52)	0,57
Nº erosiones/ pac, mediana [P25-75]	1.5 [1-2]	1.5 [1-2]	2 [1-2]	
DEA, n (%)	13 (50)	13 (50)	13 (50)	1
Nº DEA/ paciente, mediana [P25-75]	2 [1-2]	2 [1-2]	1 [1-2]	
TRATAMIENTO				
	Período 0	Período 1	Período 2	
DMARS, n (%)	27 (100)	26 (96)	22 (89)	< 0.01 ( * # )
>1				
Aumento dosis n, (%)				
Disminución dosis n, (%)	25 (93)	24 (89)	21 (81)	0.08 ( # )
Corticoides,n (%)				
Aumento dosis, n (%)				
Disminución dosis, n (%)	21 (78)	23 (85)	23 (85)	0,19
AINE, n (%)				
Aumento dosis, n (%)				
Disminución dosis, n (%)	2 (9)	0 (0)	3 (12)	
	0 (0)	1 (4)	2 (8)	

(\*) período 0 vs período 1

(#) período 0 vs período 2

Las artralgias y las manifestaciones extrarticulares se manifestaron con menor frecuencia con el correr de las visitas (ésto se puede asumir a la buena adherencia y/o efecto del tratamiento).

No se constató en el seguimiento anual, una relación entre las nuevas manifestaciones radiológicas y un aumento en las concentraciones de neopterina, es decir, en aquellos en quienes habían aparecido nuevas erosiones y/o DEA los niveles de neopterinas habían sido inferiores.

Con respecto al tratamiento, se observó que tanto las concentraciones de neopterina y el DAS 28 fue inferior de forma gradual en el seguimiento anual en aquellos pacientes en quienes estaban con medicación.

## **\*\* Pacientes con Artritis temprana y los controles (Tabla 2):**

Las comparaciones entre los pacientes con Artritis temprana (At) y los controles, la Edad de los pacientes con artritis temprana (At) era 36 +/- 13 años y los controles 37 +/- 12 años (valor de p= 0,67), el Sexo de los pacientes con At 19(70%) femenino y los controles 30 (70%) femenino (valor de p=0,96).

Las Neopterinas >de 10nmol/l en los pacientes con At: 8(30%) y los controles 0 (valor de p =0.000).La mediana de la neopterina entre los pacientes con At fue 7.51 vs 5.32 en los controles valor de p= 0.0004.

El FR > a 14: en los pacientes con At: 22(81%) y en los controles 0(valor de p=0,000); PCR > 5: 7(26%) en At y 0 en los controles (valor de p=0,000).

**Tabla 2:**

	<b>Pacientes con At (N= 27)</b>	<b>Controles (N= 38)</b>	<b>valor de p</b>
Edad, media $\pm$ DS	36 $\pm$ 13	37 $\pm$ 12	0.67
Sexo fem, n (%)	19 (70)	29 (76)	0.96
Neopterinas, mediana [P25-75]	7.51 [5.47-11.4]	5.32 [3.5-6.44]	0.0004
Neopterinas >10, n (%)	8 (30)	0 (0)	0.0000
FR, mediana [P25-75]	71[17-205]	6[6-6]	0.0000
FR > 14, n (%)	22 (81)	0 (0)	0.0000
PCR mediana [P25-75]	3 [1-6]	1 [0.42-1]	0.004
PCR > 5, n (%)	7 (26)	0 (0)	0.000

Se constató que en los pacientes con At los valores de neopterina estaban significativamente elevados con respecto a los controles sanos p= 0.0004.

**\*\*Comparación entre DAS 28 y Reactantes de fase aguda (ERS y PCR). Tabla 3:**

**Tabla 3:**

**ERS:**

	Período inicial		
	ERS > 25 (N: 12)	ERS < 25 (N: 15)	Valor de p
<b>DAS 28, mediana [P25-75]</b>	4.23 [3.68-4.8]	3.42 [2.22-4.5]	0,08
<b>DAS 28 &gt; 3.2, n (%)</b>	2 (33)	15 (88)	0,02

	Período: 6meses		
	ERS > 25 (N: 12)	ERS < 25 (N: 15)	Valor de p
<b>DAS 28, mediana [P25-75]</b>	3.87 [3.02-4.76]	2.69 [1.72-3.32]	0,004
<b>DAS 28 &gt; 3.2, n (%)</b>	7 (64)	4 (25)	0,06

	Período :1 año		
	ERS > 25 (N: 12)	ERS < 25 (N: 15)	Valor de p
<b>DAS 28, mediana [P25-75]</b>	3.13 [2.68-3.83]	2.34 [1.74-2.94]	0,008
<b>DAS 28 &gt; 3.2, n (%)</b>	9 (50)	1 (11)	0,09

Se halló asociación estadísticamente significativa entre DAS 28 y eritrosedimentación en los periodos 6 meses y al año, con los correspondientes valores de p= 0,004 y 0,008. Sólo no fue significativa al inicio.

**PCR:**

	Período inicial		
	PCR > 5 (N: 7)	PCR normal (N: 20)	Valor de p
<b>DAS 28, mediana [P25-75]</b>	4.73 [3.81-6.66]	3.53 [2.66-4.23]	0,01
<b>DAS 28 &gt; 3.2, n (%)</b>	7(100)	12(60)	0,07

	Período: 6meses		
	PCR > 5 (N: 7)	PCR normal (N: 20)	Valor de p
<b>DAS 28, mediana [P25-75]</b>	3.67 [3.18-4.76]	2.73[2.08-3.35]	0,01
<b>DAS 28 &gt; 3.2, n (%)</b>	6(67)	5(28)	0,1

	Período :1 año		
	PCR > 5 (N: 7)	PCR normal (N: 20)	Valor de p
<b>DAS 28, mediana [P25-75]</b>	3.21 [2.94-3.83]	2.53 [1.92-3.01]	0,01
<b>DAS 28 &gt; 3.2, n (%)</b>	9 (60)	1 (8)	0,01

Se halló asociación estadísticamente significativa entre DAS 28 y PCR en los tres periodos, con valores de p= 0.01.

**\*\* Descripción de pacientes con Neopterinas > a 10 nmoles/L y las variables de laboratorios evaluadas, junto a las escalas de evaluación de DAS 28 –HAQ-EVA (Tabla 4):**

Neopterina > de 10 nmoles/L n (%): **8(30%)** pacientes en el período inicial, **5(19%)** pacientes a los 6 meses y **9 (33%)** pacientes al año con valor de  $p = 0.55$ .

El FR (> a 14): al inicio: en 22(81 %) pacientes y el dosaje de neopterina > de 10 nmoles/L sólo en 8 pacientes; a los 6 meses: en 20(74%) pacientes y neopterina > de 10 nmoles/L sólo en 5 pacientes y al año: en 21(78%) pacientes con neopterina > de 10 nmoles/L sólo en 8 pacientes.

Anti CCP (> de 40): al inicio: en 22(81%) pacientes y el dosaje de neopterina > de 10 nmoles/L sólo en 9, a los 6 meses: en 20(74%) pacientes y neopterina > de 10 nmoles/L sólo en 6 pacientes y al año: en 21(78%) con neopterina > de 10 nmoles/L sólo en 7 pacientes.

ERS (> 25 mm): al inicio: en 12(44%) pacientes y el dosaje de neopterina > de 10 nmoles/L sólo en 6, a los 6 meses: en 11(41%) pacientes y neopterina > de 10 nmoles/L sólo en 3 pacientes y al año: 18(67%) pacientes con neopterina > de 10 nmoles/L sólo en 6 pacientes.

PCR (> de 5): al inicio: en 7 (26%) pacientes y el dosaje de neopterina > de 10 nmoles/L en ningún paciente, a los 6 meses: en 9(33%) pacientes y neopterina > de 10 nmoles/L sólo en 2 pacientes y al año: 15(56%) pacientes y con neopterina > de 10 nmoles/L sólo en 4 pacientes.

FAN (+): al inicio: en 5(19%) pacientes y el dosaje de neopterina > de 10 nmoles/L sólo en 2 pacientes, a los 6 meses: en 3(11%) pacientes y neopterina > de 10 nmoles/L sólo en 1 paciente; y al año: 5 (20%) pacientes y neopterina > de 10 nmoles/L sólo en 3 pacientes.

Anticuerpos Anti Ro (+): al inicio no se encontró en ningún paciente, pero al año se observó en 2 (8%) pacientes y ninguno de ellos tenían neopterina > de 10 nmoles/L.

Se constató que en los tres períodos, que no hay una relación entre las variables de laboratorios y un aumento en los títulos de los niveles de neopterina.

**Con respecto a las escalas de evaluación:**

(DAS 28 > 3,2): en el período inicial: 19 (70%) pacientes y el dosaje de neopterina > de 10 nmoles/L 4 pacientes; a los 6 meses: 11(41%) pacientes y el dosaje de neopterina > de 10 nmoles/L 3 pacientes y al año: 10(37%) pacientes y el dosaje de neopterina > de 10 nmoles/L 2 pacientes.

(HAQ > 0,87): en el período inicial: 8(30%) pacientes y el dosaje de neopterina > de 10 nmoles/L en 2 pacientes, a los 6 meses: 4(15%) pacientes y el dosaje de neopterina > de 10 nmoles/L en 1 paciente y al año: en 5(19%) pacientes y el dosaje de neopterina > de 10 nmoles/L en ningún paciente.

EVA: período inicial: 29 pacientes (1- 42), a los 6 meses: en 5 pacientes y al año: 0 pacientes (0-3) valor de  $p = < 0,01$ .

Se observó que en los tres períodos, no hubo una relación entre las escalas de evaluación y un aumento en los títulos de los niveles de neopterina.

En el seguimiento anual, los valores de neopterina aumentaron en 11 pacientes, en 14 disminuyeron y 2 pacientes no continuaron el seguimiento por motivos personales.

**(Tabla 4):**

	Período 0	Período 1	Período 2	Valor de p
Neopterinas, mediana [P25-75]	7.51 [5.47-11.4]	7.71 [6.09-8.97]	6.75 [4.72-10]	0,49
Neopterinas >10, n (%)	8 (30)	5 (19)	9 (33)	0.55
FR, mediana [P25-75]	71[17-205]	59[13-114]	73[20-190]	0.005 *
FR > 14, n (%)	22 (81)	20 (74)	21 (78)	0,6
AntiCCP, mediana [P25-75]	145.5 [77.3-232]	163 [35.3-211]	176 [99.5 -220]	0,62
AntiCCP > 40, n (%)	22 (81)	20 (74)	21 (78)	0,55
ERS >25 n (%)	12 (44)	11 (41)	18 (67)	0.10 ( #)
ERS, mediana [P25-75]	23 [11-33]	20 [10-47]	29 [17-36]	0,15
PCR mediana [P25-75]	3 [1-6]	3 [1-7]	6 [2-17]	0.03 #
PCR > 5, n (%)	7 (26)	9 (33)	15 (56)	0.03 #
FAN +, n (%)	5 (19)	3 (11)	5 (20)	0,7
Ro +, n (%)	0 (0)	1 (4)	2 (8)	0,2
<b>Escalas de evaluación</b>				
DAS 28, mediana [P25-75]	3.81 [3.08-4.54]	3.02 [2.14 - 3.87]	2.95 [2.36-3.27]	< 0.05 ( * # )
DAS 28 > 3.2, n (%)	19 (70)	11 (41)	10 (37)	< 0.05 ( * # )
HAQ, mediana [P25-75]	0.5 [0-1.25]	0.25 [0-0.75]	0 [0-0.37]	0.04 ( # )
HAQ > 0.87, n (%)	8 (30)	4 (15)	5 (19)	0.19 ( * )
EVA, mediana [P25-75]	29 [1-42]	4.5 [0.34-17]	0 [0-3]	< 0.01 ( * # )

(\*) período 0 vs período 1

(#) período 0 vs período 2

Y en lo referente a las escalas de evaluación: en el DAS 28 hubo una disminución gradual a los 6 meses y al año con una p estadísticamente significativa (valor de  $p = <0,05$ ). El HAQ disminuyó al año ( $p = 0.04$ ) y el EVA también fué disminuyendo gradualmente con un valor de  $p = <0,01$ . Hubo una mejoría en la clínica de los pacientes con concentraciones de neopterina > a 10 nmol/l. Todo esto se lo puede asumir por la instauración del tratamiento.

Las variables de laboratorio FR y PCR tuvieron un aumento significativo anual ( $p = 0,005$  y  $p = 0,03$ ).

**\*\*Comparación entre índices de evaluación y neopterina (Tabla 5):**

**(Tabla 5):**

	Período inicial		
	Neopterina >10 (N: 8)	Neopterinas normal ( N: 19)	Valor de p
DAS 28, mediana [P25-75]	3.37 [2.53-4.36]	3.86 [3.24-4.54]	0,34
DAS 28 > 3.2, n (%)	4 (50)	15 (79)	0,18
HAQ, mediana [P25-75]	0.06 [0 - 1.05]	0.5 [0 - 1.25]	0,43
HAQ > 0.87, n (%)	2 (25)	6 (32)	1
EVA, mediana [P25-75]	3.5 [0 - 30.5]	39 [8 - 46]	0,04

	Período: 6 meses		
	Neopterina >10 (N: 5)	Neopterinas normal ( N: 22)	Valor de p
DAS 28, mediana [P25-75]	3.33 [2.14-4.33]	2.96 [2.66-3.73]	0,6
DAS 28 > 3.2, n (%)	3 (60)	8 (36)	0,37
HAQ, mediana [P25-75]	0.37 [0 - 0.50]	0.25 [0 - 0.75]	0,85
HAQ > 0.87, n (%)	1 (20)	3 (14)	1
EVA, mediana [P25-75]	2 [1 - 17]	4.75 [0 - 17]	0,9

	Período: 1 año		
	Neopterina >10 (N: 9)	Neopterinas normal ( N: 18)	Valor de p
DAS 28, mediana [P25-75]	3.08 [2.49-3.79]	2.90 [2.34-3.27]	0,53
DAS 28 > 3.2, n (%)	4 (44)	6 (33)	0,68
HAQ, mediana [P25-75]	0 [0 - 0.37]	0.06 [0 - 0.50]	0,7
HAQ > 0.87, n (%)	2 (22)	3 (17)	1
EVA, mediana [P25-75]	0 [0 - 8]	0 [0 - 2]	0,58

No se encontró correlación entre los índices de evaluación internacional, DAS 28, Evaluación global del paciente (EVA) y Health Assessment Questionnaire (HAQ) y concentraciones elevadas de neopterina en ninguno de los tres períodos. Al inicio del estudio en los pacientes con concentración de neopterina normal el EVA fue significativamente más elevado que en aquellos pacientes con concentraciones elevadas, valor de p= 0,04.

## Discusión:

En éste estudio de pacientes con artritis temprana se encontró que los valores de neopterina estaban significativamente elevados con respecto a los controles sanos. Niveles elevados de neopterina en pacientes con artritis reumatoidea podrían indicar estimulación celular inmune y podrían constituir un parámetro importante para evaluar actividad de la enfermedad.

**Schroeksnadel y col.** evaluaron valores séricos de neopterina en 38 pacientes con diagnóstico de artritis reumatoidea y los compararon con 20 controles sanos, encontrando concentraciones significativamente más elevadas en pacientes con AR<sup>70</sup>, de manera similar a nuestros hallazgos (pacientes con At 7.51 [5.47-11.4], controles 5.32 [3.5-6.44] valor de  $p=0.0004$ ) **estadísticamente significativo**.

**Kurz y col.** evaluaron los efectos de la terapia biológica en la actividad de la enfermedad y el IFN  $\gamma$  mediada por las vías bioquímicas en pacientes con AR. Ellos encontraron correlación entre el DAS28 y los marcadores de inflamación pero no con concentraciones de neopterina<sup>71</sup>, en éste trabajo se halló similares resultados, debido a que la actividad de la enfermedad medida por el DAS28 y su asociación con las concentraciones de los marcadores de inflamación como la eritrosedimentación (ERS) en el período inicial no hubo una asociación significativa (ERS > 25(n:12): 4.23 [3.68-4.8] vs ERS < 25(n:15): 3.42 [2.22-4.5]  $p=0.08$ ), pero sí se encontró una **asociación estadísticamente significativa** en los períodos: 6 meses (ERS > 25(n:11): 3.87 [3.02-4.76] vs ERS < 25(n:16): 2.69 [1.72-3.32]  $p=0.004$ ) y al año (ERS > 25(n:18): 3.13[2.68-3.83] vs ERS < 25(n:9): 2.34 [1.74-2.94]  $p=0.008$ ). También se encontró una **asociación estadísticamente significativa** entre DAS28 y PCR en los tres períodos al igual que el trabajo de **Kurz y col.** En el período inicial : PCR > 5 (n: 7): 4.73 [3.81-6.66] vs PCR normal (n: 20): 3.53 [2.66-4.23]  $p=0.01$ ; 6 meses: PCR > 5 (n: 9): 3.67 [3.18-4.76] vs PCR normal (n: 18): 2.73 [2.08-3.35]  $p=0.01$ ; y al año: PCR > 5 (n: 15): 3.21 [2.64-3.86] vs PCR normal (n: 12): 2.53 [1.92-3.01]  $p=0.01$ .

En esta cohorte donde se evaluó a los pacientes en “períodos” y no se consideró las determinaciones totales, sino que se correlacionó el DAS 28 y los diferentes índices de evaluación, de cada paciente en cada período, no se halló correlación entre los niveles de neopterina y actividad de la enfermedad medida por el DAS28, donde se pudo observar que en el período inicial: Neopterina >10(n: 8):3.37 [2.53-4.36] vs Neopterinas normal (n: 19): 3.86 [3.24-4.54]  $p=0.34$ ; 6 meses: Neopterina >10 (n: 5): 3.33 [2.14-4.33] vs Neopterinas normal (n: 22) : 2.96 [2.66-3.73]  $p=0.6$ ; y al año: Neopterina >10 (n: 9) : 3.08 [2.49-3.79] vs Neopterinas normal (n: 18) : 2.90 [2.34-3.27]  $p=0.53$ . No se encontró correlación entre DAS 28 y neopterina, de manera similar que en el trabajo de **Kurz y col.**

Durante el seguimiento anual (si bien no era el objetivo principal del estudio), no se constató correlación entre las nuevas erosiones y/o disminución del espacio articular con concentraciones elevadas de neopterina.

Con respecto al tratamiento, en éste estudio se observó que tanto la concentración de neopterina y actividad de la enfermedad evaluada por medio del DAS 28 fue inferior en el seguimiento anual comparado con registros basales. **Schroeksnadel y col.** no encontraron efectos significativos con los diferentes regímenes terapéuticos a excepción de leflunomida, con la cual las concentraciones de tryptofano (aminoácido, cuya degradación induce incremento de neopterina) disminuyeron, pero sin diferencias estadísticamente significativas<sup>70</sup>. En el estudio de **Kurz y col.** después del tratamiento, el DAS28 mejoró significativamente (mediana antes de la terapia: 5,7 y después del tratamiento: 3.1,  $p<0,0001$ ), la PCR disminuyó significativamente ( $p<0,05$ ), mientras todos los demás parámetros investigados no se modificaron significativamente. En nuestra experiencia, en el DAS 28 también hubo una disminución gradual a los 6 meses y al año con una **p estadísticamente significativa** (valor de  $p=<0,05$ ) de manera similar al trabajo de **Kurz y col.** Pero la PCR, ni la ERS disminuyeron, si hubo registros inferiores en la concentración de neopterina.

Tampoco se registraron intercorrientes infecciosas durante el transcurso del estudio que justificaran incrementos en los valores de neopterina.

Este trabajo tiene debilidades entre las cuales se destaca el reducido número de pacientes que logró estudiarse y que, si bien no era el objetivo primario, no se logró el seguimiento adecuado para evaluar la evolución de los pacientes y así determinar si todos terminaron con el diagnóstico de artritis reumatoidea. Por otra parte existe escasa bibliografía disponible sobre neopterinas y artritis, y más aún que se relacionen éstas variables.

En nuestros resultados se observó una asociación estadísticamente significativa entre DAS28 y los marcadores de inflamación (ERS, PCR), pero no se asoció con concentraciones elevadas de neopterina, de manera similar que otros autores.

Serían necesarios estudios con mayor número de pacientes para confirmar estos datos.

La medición de neopterina sérica tiene un rol importante en la determinación de la inflamación en diversas enfermedades autoinmunes, pero se necesita de más estudios para confirmar y establecer su relación en pacientes con artritis temprana.

Conclusión: En éste estudio los resultados no demostraron que exista una correlación entre actividad de la enfermedad (DAS28) y concentraciones elevadas del marcador serológico (neopterina) comparadas en los tres períodos, ni con los demás índices de evaluación internacional. Sí se observó correlación entre DAS 28 y los reactantes de fase aguda (ERS y PCR) en los tres períodos.

#### Agradecimientos:

A Jesús, mi Señor y Salvador, quién dio sentido y una razón a mi existencia pasajera por ésta tierra. A mi esposo y compañero Gustavo, quién es de aliento para mi vida día a día. A mi madre, quien con mucho esfuerzo hizo posible mis estudios. A los colegas del Hospital San Martín: Dres. Dora Pereira, Mercedes García, Juan Carlos Babini, Amelia Granel, Claudia Pena, Adrián Salas, Josefina Marcos, Santiago Ruta y al Dr. Juan Carlos Marcos, jefe del Servicio de Reumatología.

A Liliana D'Agostino, Juan Verna, Ventimiglia F, Capparelli A, y al laboratorio D'Agostino Bruno Análisis Clínicos e Inmunológicos. La Plata. ( donde se hicieron las determinaciones serológicas).

A Cecilia Loudet y a todos los pacientes que colaboraron con éste estudio.

Al Dr. Alfredo Arturi, jefe del postgrado de Reumatología de La Plata.



## Bibliografía:

1. Spindler A, Bellomio V, Berman A, y col. Prevalence of rheumatoid arthritis in Tucumán, Argentina. *J Rheumatol.* 2002; 29: 1.166-70.
2. Soriano ER, Carrió JH, Schpilberg M, y col. Incidente and prevalence of rheumatoid arthritis in health management organization in Argentina. *Rheumatology.* 2003; 42(Supl.1):130.
3. Machold KP, Smolen JS. *J Rheumatol.* 2002; 29: 2278- 2287.
4. Arturi AS, y col. “*Enfermedades autoinmunes en reumatología*”, ed. Enfermedades autoinmunes. primera edición 2004.
5. Romagnani S, *Immunol. Today.* 1991; 12: 256-257.
6. Denz H, Fuchs D, Hausen A, Huber H, Nachbaur D, Reibnegger G, Thaler J, Werner ER, and Wachter H, *Klin. Wochenschr.* 1990; 68: 218-222.
7. Weiss G, Murr C, Zoller H, Haun M, Widner B, Ludescher C. and Fuchs D. *Clin. Exp. Immunol.* 1999; 116: 435-440.
8. Murr C, Widner B, Wirleitner B, and Fuchs D. Neopterin as a Marker for Immune System Activation. *Current Drug Metabolism*, 2002, 3, 175-187.
9. Muller TF, Vogl M, Neumann MC, Lange H, Grimm M, Muller MM. Noninvasive monitoring using serum amyloid A and serum neopterin in cardiac transplantation. *Clin. Chim. Acta* 1998; 276:63-74.
10. Murr C, Bergant A, Widschwendter M, Heim K, Schrocksnadel H, and Fuchs D. Neopterin is an independent prognostic variable in females with breast cancer. *Clin. Chem.* 1999; 45:1998-2004.
11. Haavik, J. [From butterflies to neurobiology and the diagnosis of AIDS. The 100 th anniversary of the discovery of pteridines]. *Tidsskr Nor Laegeforen* 1989; 109:1986-9.
12. Muller MM, Curtius HC, Herold M, Huber CH. Neopterin in clinical practice. *Clin. Chim. Acta* 1991; 201:1-16.
13. Oetl K, Reibnegger G. Pteridines as inhibitors of xanthine oxidase: structural requirements. *Biochim. Biophys Acta* 1999; 1430:387-95.
14. Anwaar I, Gottsater A, Hedblad B, Palmqvist B, Mattiasson I, Lindgarde F. Endothelial derived vasoactive factors and leukocyte derived inflammatory mediators in subjects with asymptomatic atherosclerosis. *Angiology* 1998; 49:957-66.
15. Millner MM, Franthal W, Thalhammer GH. et al. Neopterin concentrations in cerebrospinal fluid and serum as an aid in differentiating central nervous system and peripheral infections in children. *Clin. Chem.* 1998; 44:161-7.
16. Ziegenhagen MW, Benner UK, Zissel G, Zabel P, Schlaak M, Muller-Quernheim, J. Sarcoidosis: TNF-alpha release from alveolar macrophages and serum level of sIL-2R are prognostic markers. *Am J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 156:1586-92.

17. Werner ER, Bichler A, Daxenbichler G. et al. Determination of neopterin in serum and urine. *Clin.Chem.*1987; 33:62-6.
18. Katoh S, Sueoka T, Matsuura S, Sugimoto T. Biopterin and neopterin in human saliva. *Life Sci* 1989; 45:2561-8.
19. Nathan CF. in Interferon 7, (Gresser, I. and Vilcek, J. Eds.), *Academic Press, London*, pp. 1986; 125-143.
20. Abou Deya SH, El-Lakany SA and Sharaki OA. *Clin. Chem.* 1998; 44 (Suppl 6), A8.
21. Fuchs D, Baier-Bitterlich G, Wede I. and Wachter, H. in Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses, (Scandalios, J. Ed.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor-New York,pp. 1997; 139-167.
22. Murr C, Fuith LC, Widner B, Wirleitner B, Baier- Bitterlich G. and Fuchs D. *Anticancer Res.*1999; 19(3A), 1721-1728.
23. Murr C, Bergant A, Widschwendter M. Heim K, Schrocksnadel H, Fuchs D. Neopterin is an independent prognostic variable in females with breast cancer. *Clin. Chem.* 1999; 45:1998-2004.
24. Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER, Dierich MP, Wachter H. Neopterin as a marker for activated cell-mediated immunity: application in HIV infection. *Immuno.l Today* 1988; 9: 150-155.
25. Wachter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Weiss G, Werner ER, Werner-Felmayer G. Neopterin - Biochemistry Methods Clinical Application. *Berlin-New York: Walter de Gruyter*1992.
26. Reibnegger G, Auhuber I, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Prior C, Werner ER, Wachter H. Urinary neopterin levels in acute viral hepatitis. *Hepatology* 1988; 8 771-774.
27. Reibnegger G, Fuchs D, Grubauer G, Hausen A, Wachter H. Neopterin excretion during incubation period clinical manifestation and reconvalescence of viral infection. In: Pflleiderer W, Wachter H, Curtius HC, eds. Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines. Vol 3. *Berlin-New York: Walter deGruyter* 1984; 433-437.
28. Tilg H, Margreiter R, Scriba M, Marth C, Niederwieser D, Aulitzky W, Spielberger M, Wachter H, Huber C. Clinical presentation of CMV infection in solid organ transplant recipients and its impact on graft rejection and neopterin excretion. *Clin. Transplantation* 1987; 1: 37-43.
29. Griffin DE, Ward BJ, Jauregui E, Johnson RT, Vaisberg A. Immune activation during measles:interferon gamma and neopterin in plasma and cerebrospinal fluid in complicated and uncomplicated disease. *J Infect Dis* 1990; 161: 449-453.
30. Zaknun D, Weiss G, Glatzl J, Wachter H, Fuchs D. Neopterin levels during acute rubella in children. *Clin. Infec.t Dis.* 1993; 17: 521-522.
31. Zangerle R, Schönitzer D, Fuchs D, Möst J, Dierich MP, Wachter H. Reducing HIV transmis -sion by seronegative blood. *Lancet* 1992; 339: 130-131.
32. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002; 420: 860-867.
33. Reibnegger G, Egg D, Fuchs D, Günther R, Hausen A, Werner ER, Wachter H. Urinary Neopterin reflects clinical activity in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumat.* 1986; 29: 1063-1070.

34. Märker-Alzer G, Diemer O, Strümper R, Rohe M. Neopterin production in inflamed knee joints: high levels in synovial fluids. *Rheumatol. Int.* 1986; 6: 151-154.
35. Samsonov MY, Tilz GP, Egorova O, Reibnegger G, Balabanova RM, Nasonov EL, Nasonova VA, Wachter H, Fuchs D. Serum soluble markers of immune activation and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1995; 4: 29-32.
36. Nasonov EL, Samsonov MY, Tilz GP, Beketova TV, Semenkova EN, Baranov A, Wachter H, Fuchs D. Serum concentrations of neopterin soluble interleukin 2 receptor and soluble tumor necrosis factor receptor in Wegener's granulomatosis. *J Rheumatol* 1997; 24:666-670.
37. Samsonov MY, Nasonov EL, Tilz GP, Geht BM, Demel U, Gurkina GT, Shtutman VZ, Guseva AG, Wachter H, Fuchs D. Elevated serum levels of neopterin in adult patients with polymyositis/dermatomyositis. *Brit J Rheumatol* 1997; 36: 656-660.
38. Prior C, Bollbach R, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Niederwieser D, Reibnegger G, Rotthauwe HW, Werner ER, Wachter H. Urinary neopterin a marker of clinical activity in patients with Crohn's disease. *Clin Chim Acta* 1986; 155: 11-21.
39. Reibnegger G, Bollbach R, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Prior C, Rotthauwe HW, Werner ER, Wachter H. A simple index relating clinical activity in Crohn's disease with T cell activation: hematocrit, frequency of liquid stools and urinary neopterin as parameters. *Immunobiology* 1986; 173: 1-11.
40. Niederwieser D, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Reibnegger G, Wachter H, Huber C. Neopterin as a new biochemical marker in the clinical assessment of ulcerative colitis. *Immunobiology* 1985; 170: 320-326.
41. Leblhuber F, Walli J, Demel U, Tilz GP, Widner B, Fuchs D. Increased serum Neopterin concentrations in patients with Alzheimer's disease. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 429-431.
42. Leblhuber F, Walli J, Jellinger K, Tilz GP, Widner B, Laccone F, Fuchs D. Activated immune system in patients with Huntington's disease. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36: 747-750.
45. Fredrikson S, Link H, Eneroth P. CSF neopterin as marker of disease activity in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1987; 75: 352-355.
46. Frick B, Neurauter G, Diez-Ruiz A, Schroecksnadel K, Wirleitner B, Leblhuber F, Fuchs D. Neopterin and oxidation products in the blood of patients with various forms of dementia. *Pteridines* 2003; 14: 88-93.
47. Widner B, Leblhuber F, Fuchs D. Increased neopterin production and tryptophan degradation in advanced Parkinson's disease. *J Neural Transm* 2002; 109: 181-189.
48. Weiss G, Willeit J, Kiechl S, Fuchs D, Jarosch E, Oberhollenzer F, Reibnegger G, Tilz GP, Gerstenbrand F. and Wachter H. *Atherosclerosis* 1994; 106, 263-271.
49. Melichar B, Gregor J, Solichova D, Lukes J, Tichy, M. and Pidrman V. *Clin. Chem.* 1994; 40, 338-339.
50. Gupta S, Fredericks S, Schwartzman RA, Holt D.W. and Kaski, J.C. *Lancet* 1997, 349, 1252-1253.
51. Schumacher M, Halwachs G, Tatzber F, Fruhwald FM, Zweiker R, Watzinger N, Eber B, Wilders-Truschnig M, Esterbauer H. and Klein, W. *J. Am. Coll. Cardiol* 1997; 30, 703-707.

52. Samsonov M, Fuchs D, Reibnegger G, Belenkov JN, Nasonov E.L. and Wachter, H. *Clin. Chem* 1992; 38:678-680.
53. Hwu P, Du MX, Lapointe R, Do M, MW Taylor Indolamina 2,3-dioxigenasa de producción por las células dendríticas humanas resultados en la inhibición de la proliferación de células T. *J Immunol.* 2000 Apr 1; 164(7):3596-3599.
54. Tilg H, Margreiter R, Scriba M, Marth C, Niederwieser D, Aulitzky W, Spielberger M, Wachter H, Huber C. Clinical presentation of CMV infection in solid organ transplant recipients and its impact on graft rejection and neopterin excretion. *Clin. Transplantation* 1987; 1: 37-43.
55. Reibnegger G, Aichberger C, Fuchs D, Hausen A, Spielberger M, Werner ER, Margreiter R, Wachter H. Posttransplant neopterin excretion in renal allograft recipients - a reliable diagnostic aid for acute rejection and a predictive marker of long-term graft survival. *Transplantation* 1991; 52: 58-63.
56. Königsrainer A, Reibnegger G, Ofner D, Klima G, Tauscher T, Margreiter R. Pancreatic juice neopterin excretion: reliable marker for detection of pancreatic allograft rejection. *Transplant Proc* 1990; 22: 671-672.
57. Niederwieser D, Huber C, Gratwohl A, Bannert P, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Speck B, Wachter H. Neopterin as a new biochemical marker in the clinical monitoring of bone marrow transplant recipients. *Transplantation* 1984; 38: 497-500.
58. Zangerle R, Schönitzer D, Fuchs D, Möst J, Dierich MP, Wachter H. Reducing HIV transmission by seronegative blood. *Lancet* 1992; 339: 130-131.
59. Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER, Dierich MP, Wachter H. Neopterin as a marker for activated cell-mediated immunity: application in HIV infection. *Immunol Today* 1988; 9: 150-155.
60. Fuchs D, Banekovich M, Hausen A, Hutterer J, Reibnegger G, Werner ER, Gschnait FD, Dierich MP, Wachter H. Neopterin estimation compared with the ratio of T-cell subpopulations in persons infected with human immunodeficiency virus-1. *Clin. Chem.* 1988; 34: 2415-2417.
61. Fuchs D, Wachter H. Neopterin - ein Marker für den zellulären Immunstatus - Bedeutung bei AIDS, ARC und AIDS-Risikogruppen, in: AIDS (Gschnait F, Wolff K, eds.), Springer-Verlag, Wien, New York, 1985, pp 97-127.
62. Reibnegger G, Egg D, Fuchs D, Günther R, Hausen A, Werner ER. and Wachter, H. *Arthritis Rheumat.*, 1986; 29, 1063-1070.
63. Märker-Alzer G, Diemer O, Strümper R. and Rohe M. *Rheumatol. Int* 1986; 6, 151-154.
64. Weiss G, Widner B, Zoller H, Schobersberger W, Fuchs D. Immune response and iron metabolism. *Br. J. Anaesth.* 1998; 81 Suppl 1:6-9.
65. Werner ER, Bichler A, Daxenbichler G. et al. Determination of neopterin in serum and urine. *Clin. Chem.* 1987; 33:62-6.
66. Avanzas P, Arroyo-Espliguero R. NEOPTERINA: un marcador de actividad de enfermedad coronaria. *Boletín del Consejo Argentino de H.T.A.* - Año 6 - Abril-Junio - 2005.
67. Visser H, LE Cessie S, Vos K, Breed Veld FC, Hazes JM. "How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis". *Arthritis Rheum* 2002; 46: 357-65.

- 68.** Esteve-Vives J, Batle-Gualda E, Reig A, "Grupo para la adaptación del HAQ a la Población Española". Spanish version of the Health Assessment Questionnaire (HAQ): reliability, validity and transcultural equivalency. *J Rheumatol* 1993;20:2116-22.
- 69.** van der Heijde D, Dankert T, Nieman F, Rau R, Boers M. Reliability and sensitivity to change of a simplification of the Sharp/van der Heijde radiological assessment in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 1999; 38(10):941-7.
- 70.** Schroecksnadel K, et al. Increased Degradation of Tryptophan in Blood of Patients with Rheumatoid Arthritis. *The Journal of Rheumatology* 2003; 30: 1935-1939.
- 71.** Kurz K, Herold M, Winkler Ch, Klotz W, Russe E, Fuchs D, Efectos de la terapia con adalimumab en la actividad de la enfermedad y el interferón- $\gamma$  mediada por las vías bioquímicas en pacientes con artritis reumatoide. *Autoinmunity*. 2011; 44(3):235-242.